

⑤

Int. Cl. 2:

C 07 H 15-22

⑯ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

A 61 K 31-71

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 25 17 600 A1

⑪

# Offenlegungsschrift 25 17 600

⑫

Aktenzeichen:

P 25 17 600.5

⑬

Anmeldetag:

21. 4. 75

⑭

Offenlegungstag:

18. 12. 75

⑳

Unionspriorität:

③② ③③ ③①

29. 5. 74 Frankreich 7418556

⑤④

Bezeichnung:

Neue Gentamicinderivate, Verfahren zur Herstellung derselben und diese enthaltende pharmazeutische Mittel

⑦①

Anmelder:

Laboratorios Hosbon S.A., Barcelona (Spanien)

⑦④

Vertreter:

Tiedtke, H., Dipl.-Ing.; Bühling, G., Dipl.-Chem.; Kinne, R., Dipl.-Ing.; Pat.-Anwälte, 8000 München

⑦②

Erfinder:

Jurado Soler, Alberto; Puigmarti Codina, Jose; Ortiz Hernandez, Jose Alfonso; Barcelona (Spanien)

**TIEDTKE - BÜHLING - KINNE**

Patentanwält :  
Dipl.-Ing. Tiedtke  
Dipl.-Chem. Bühling  
Dipl.-Ing. Kinne

2517600

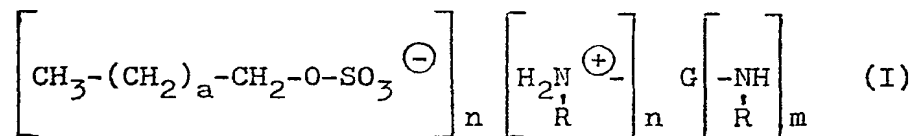
8 Münch n 2, P stfach 202403  
Bavariaring 4  
Tel.: (0 89) 53 96 53 - 56  
Telex: 5 24 845 tipat  
cable: Germaniapatent München

21. April 1975  
B 6534

Laboratorios Hosbon, S.A.  
Barcelona, Spanien

Neue Gentamicinderivate, Verfahren zur Herstellung derselben und diese enthaltende pharmazeutische Mittel

Gegenstand der Erfindung sind neue therapeutisch und im Veterinärbereich brauchbare Gentamicinderivate der allgemeinen Formel:



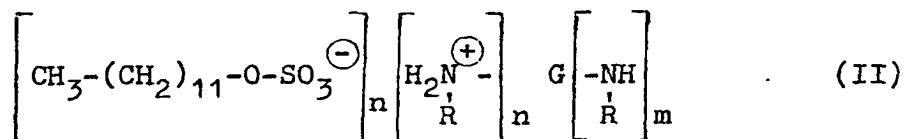
wobei a von 6 bis 10, n von 1 bis 5 und m von 0 bis 4 variieren kann.

Ein typisches Beispiel für solche Verbindungen entspricht der allgemeinen Formel:

V

509851/0945

2517600



in der n von 1 bis 5 und m von 0 bis 4 variieren kann, wobei die Summe von beiden stets gleich 5 sein soll; R bedeutet Wasserstoff oder Methyl und G ist der Rest eines Gentamicinmoleküls, wobei hier unter der allgemeinen Bezeichnung "Gentamicin" die verschiedenen unter dem Namen Gentamicine bekannten antibiotischen Aminoglykoside zu verstehen sind, von denen die gängigsten durch die Gentamicine C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> und C<sub>1A</sub> gebildet werden, die alle 5 NHR-Gruppen pro Molekül enthalten, wobei der Substituent R bei den einzelnen Gentamicinen eine unterschiedliche Bedeutung hat und beim Gentamicin C<sub>1</sub> Methyl bedeutet und bei den Gentamicinen C<sub>2</sub> und C<sub>1A</sub> Wasserstoff ist.

Die Erfindung umfaßt auch ein Verfahren zur Herstellung dieser neuen Derivate der Formel (I) sowie diese enthaltende pharmazeutische Mittel, die insbesondere in einer für die parenterale und topische Anwendung geeigneten Form vorliegen. Gemäß der Erfindung wird die Pharmakokinethik von Gentamicin durch parenterale oder topische Verabreichung von einer oder mehreren Verbindungen bzw. Stoffen der Formel I modifiziert bzw. verbessert.

Gentamicin ist bekanntlich ein aus *Micromonospora* Sp. isoliertes Antibiotikum, das gegen gramnegative Organismen

509851/0945

einschließlich *Aerobacter* Sp., *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* Sp., *Escherichia coli* und speziell gegenüber *Pseudomonas*- und *Proteus*arten sowie auch gegenüber einigen grampositiven Organismen wie beispielsweise den Stämmen von *Staphylokokkus aureus* und diversen  $\beta$ -hämolytisch wirkenden Streptokokken wirksam und somit für die Behandlung von Infektionskrankheiten von großem therapeutischen Interesse ist, die durch Mikroorganismen hervorgerufen werden, die gegenüber anderen antibiotischen Mitteln resistent sind, jedoch auf Gentamicin ansprechen.

Das Fehlen von gentamicinresistenten Keimen führt in der Tat zu einer Abwandlung des Breitbandantibiotika-konzepts, da die Wirksamkeit von Gentamicin gegenüber den *Proteus*- und *Pseudomonas*arten letzteres zu einem bevorzugten Antibiotikum bei der Behandlung von schweren Infektionskrankheiten macht, deren sofortige klinische und bakteriologische Diagnostik schwierig ist.

Das in Form des wasserlöslichen Sulfats verwendete Gentamicin wird auf oralem Wege kaum aufgenommen bzw. resorbiert, während die Resorption bei intramuskulärer Verabreichung rasch verläuft und nach 0,5 bis 1 Stunden maximale und sehr hohe Konzentrationen im Serum liefert, die nach 6 bis 8 Stunden auf sehr niedrige, subtherapeutische Werte abfallen, was zu einer alle 8 Stunden wiederholten Verabreichung zwingt.

Die mit dem Gentamicin verbundenen toxischen Erscheinungen sind bekannt (renale Wirkungen, Wirkungen auf das achte Paar der Gehirnnerven usw.) und sie werden verstärkt, wenn eine Niereninsuffizienz besteht und sie hängen selbstverständlich von der Gentamicinkonzentration im Organismus ab, was eine individuelle und genaue Dosierung nötig macht.

Zur Zeit wird angenommen, daß der Gentamicinpegel im Plasma, bei dem toxische Erscheinungen aufzutreten beginnen, bei 10 bis 12  $\mu\text{g/ml}$  liegt (G.G. Jackson, G. Arcieri, J. Infect. Dis. 124 (Suppl.) 1971, 130-37). Auf der anderen Seite führt eine tägliche Einzeldosis von 3,2 mg/kg Gentamicinsulfat, die etwa der in 3 Tagesdosen (alle 8 Stunden) zu verabreichenden vorgeschlagenen Gesamtdosis entspricht, zu Gentamicinpegeln von 12-14  $\mu\text{g/ml}$  nach einer halben Stunde, 12-16  $\mu\text{g/ml}$  nach einer Stunde und etwa 10  $\mu\text{g/ml}$  nach zwei Stunden, während subtherapeutische Konzentrationen nach 12 Stunden erreicht werden (J. Black u.a. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1963, 138). Eine einzelne Tagesverabreichung einer geringeren Dosis, die zu Gentamicinkonzentrationen unter 10  $\mu\text{g/ml}$  führt, hat den offensichtlichen Mangel, daß subtherapeutische Konzentrationen früher erreicht werden.

Aus den genannten Gründen ist somit ein Gentamicinderivat, dessen pharmakokinetische Eigenschaften zu einer für therapeutische Zwecke ausreichenden Bioverfügbarkeit

führen, ohne durch eine relativ übermäßige Dosierung unerwünschte Effekte hervorzurufen, wie sie beim Gentamicinsulfat beobachtet werden, von großem Interesse. Ein solches Derivat sollte somit langsam resorbiert werden, anhaltende therapeutische Konzentrationen liefern und eine geringere Toxizität besitzen.

Es wurde nun gefunden, daß die eingangs genannten neuen Gentamicinderivate der Formel (I), die durch partielle oder vollständige Neutralisation der basischen Gruppen mit einer Verbindung der Formel  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_a-\text{CH}_2-\text{O}-\text{SO}_3\text{H}$  (mit  $a = 6$  bis  $10$ ), also beispielsweise mit n-Dodecylschwefelsäure oder n-Octylschwefelsäure erhalten werden, wodurch Verbindungen entstehen, die von Verbindungen mit  $n = 1$  und  $m = 4$  bis zu Verbindungen mit  $n = 5$  und  $m = 0$  reichen, bei parenteraler Verabreichung unter den gleichen Bedingungen und in den gleichen Dosen wie das Gentamicin Absorptionskurven liefern, die äquivalente Flächen, jedoch Konzentrationsmaxima mit deutlich langsamerer Abnahme aufweisen, die sich nach rechts verschieben, wenn  $n$  von  $1$  bis  $5$  variiert, unter Lieferung von zunehmend verlängerten bzw. lang anhaltenden Konzentrationen im Blut.

Es konnte weiter beobachtet werden, daß der Aufnahme- bzw. Resorptionsrhythmus von jedem dieser Derivate in einem gewissen Maße abhängig von dem oder den für die Verabreichung

verwendeten Lösungsmittel(n) je nach ihrem mehr oder weniger lipophilen Charakter und ihrer Mischbarkeit und/oder Emulgierbarkeit in Wasser modifiziert werden kann.

Alle diese Variationsfaktoren ermöglichen es, unter den neuen erfindungsgemäßen Verbindungen dasjenige oder diejenigen Derivat(e) auszuwählen, das bzw. die mit den angemessenen Lösungsmitteln intramuskulär verabreicht einen Resorptionsrhythmus ergibt bzw. ergeben, der dem verfolgten Zweck angepaßt ist, wobei gleichzeitig die Nachteile der klinischen Verabreichung von Gentamicin (alle 8 Stunden) vermieden werden, mit der je nach Dosis übermäßig hohe Konzentrationen in den ersten Stunden (Toxizitätsrisiko) oder ungenügende Antibiotikakonzentrationen im Blut in der einer erneuten Verabreichung vorangehenden Periode resultieren würden.

Gemäß der Erfindung ist es mithin erstmals möglich, die pharmakokinetischen Eigenschaften von Gentamicin unter Auswahl des erfindungsgemäßen Derivats bzw. der Derivate mit dem angemessenen Lösungsmittel und/oder Trägermitteln derart zu modifizieren, daß mit einer geringeren Anzahl von täglichen Verabreichungen, als bislang für Gentamicinsulfat vorgesehen, für die Behandlung einer gegebenen Infektion angemessene Antibiotikakonzentrationen erreicht werden, die sowohl über der therapeutischen bzw. therapeu-

tisch wirksamen Konzentration als auch unter der möglicherweise toxischen Konzentration von 10-12  $\mu\text{g/ml}$  liegen und über eine längere Zeitdauer hinweg erhalten bleiben.

Eine Verbindung, bei der vorteilhafte Ergebnisse gefunden wurden, ist die Verbindung der Formel (I), bei der  $a$  gleich 10 und  $n$  gleich 3 ist: Diese liefert in der Tat befriedigende Konzentrationen im Serum-sowohl kurze Zeit nach ihrer Verabreichung als auch längere Zeit danach.

An Ratten mit den erfindungsgemäßen Produkten im Vergleich zum Gentamicinsulfat durchgeführte Versuche ergaben die in den Tabellen I und II wiedergegebenen Gentamicinkonzentrationen im Blut. Bei diesen Versuchen wurden für jedes Produkt Gruppen von 5 Wistar-Ratten beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 150 bis 200 g herangezogen, denen intramuskulär Gentamicinsulfatlösungen in Wasser bzw. die erfindungsgemäßen Produkte in einem alkoholischen Lösungsmittel mit einer solchen Konzentration verabreicht wurden, daß die Tiere 0,1 ml Lösung pro 100 g Körpergewicht erhielten. Die Dosis und die Serum-Werte sind in den Tabellen für alle Produkte auf Gentamicin-Base umgerechnet angegeben.

Die Blutentnahmen erfolgten durch Kardialpunktion beim mit Äther anästhesierten Tier. Die Gehaltsbestimmungen erfolgten mit *Bacillus Pumilus* NCTC 8241, bezogen auf eine



Einheit Sulfat.

Tabelle I

Gentamicinkonzentrationen im Blut der Ratte  
(mit 5 Tieren erhaltene Mittelwerte)

Produkte	Stunden nach Verabreichung						
	1	2	4	6	8	12	16
Gentamicin-sulfat - -	20	8,5	1,9	0,9	0,5	0,2	0,2
erfindungsgemäßes Derivat, n=1, a=10	17	12,9	4,2	2,5	1,4	0,5	0,4
" n=2, a=10	13,6	10,1	6,7	4,0	2,7	1,3	0,8
" n=3, a=10	12	9,7	7,9	5,1	3,2	1,9	1,1
" n=4, a=10	7,9	9,0	7,4	5,5	4,1	2,0	0,9
" n=5, a=10	4,4	5,3	5,8	5,7	5,5	2,9	0,8

Die Dosen entsprachen 25 mg Gentamicin-Base pro kg.  
Die Ergebnisse sind in µg Gentamicin-Base pro ml Plasma ausgedrückt.

Weitere Versuche mit den in Tabelle II angegebenen Mengen führten zu den ebenfalls in Tabelle II zusammengefaßten Ergebnissen.

Tabelle II

Gentamicinkonzentrationen im Serum der Ratte  
( $\mu\text{g/ml}$ ; Mittelwerte für 5 Tiere)

Produkte	Stunden nach Verabreichung			
	1	2	4	6
Gentamicinsulfat	28,8	13,8	1,3	< 0,2
Gentamicin-tri- (n-octyl-sulfat) *	27,0	20,1	8,4	0,3
Gentamicin-penta- (n-octyl-sulfat) *	21,9	18,0	7,8	1,3

\* Derivate mit  $a = 6$

Wie man feststellen kann, besagen die Resorptionskurven, daß die Persistenz der Gentamicinpegel mit steigendem  $n$  zunimmt, während die Maximalwerte abnehmen und nach rechts bzw. zu längeren Zeiten hin (nach der Verabreichung) verschoben sind.

Nachfolgend werden Ergebnisse von Versuchen mitgeteilt, aus denen der Einfluß der lipophilen Eigenart des Lösungsmittels auf die Serum-Konzentrationen und mithin auf den Resorptionsrhythmus hervorgeht (für diese Versuche wurde die Verbindung der Formel (I) mit  $n = 5$  und  $a = 10$  verwendet).

Tabelle III

Gentamicinkonzentrationen im Serum der Ratte  
(Mittelwerte für 5 Tiere)

Stunden nach Verab- reichung	Alkohol	Äthyl- lactat	in Wasser disper- gierbares lipophiles Lösungsmittel (40 % Tetraglykol + 60 % Labrafil)	lipophiles Lösungsmittel (40 % Tetra- glykol + 60 % Äthyloleat)
1	4,4	4,9	4,6	3,2
3	5,7	5,3	3,6	3,3
6	5,4	5,1	2,8	2,9
12	2,6	2,5	1,8	2,1
16	0,8	0,6	1,2	1,4

Verabreicht wurden 25 mg Gentamicin-Base pro kg ent-  
sprechende Dosen. Die Ergebnisse sind in  $\mu\text{g}$  Gentamicin-Base  
pro ml Plasma ausgedrückt.

Wie man sieht, werden mit zunehmend lipophilem Charak-  
ter des Lösungsmittels geringere und länger anhaltende Blut-  
Konzentrationen erhalten.

Dennoch ist der Einfluß auf die Resorptionsgeschwindig-  
keit oder pharmakokinetischen Eigenschaften von Gentamicin,  
wie er sich aus der Lage der ursprünglichen Maximalwerte und der  
Persistenz der Konzentrationen im Serum nach den Tabellen I

509851/0945

und II ergibt, größer, wenn im gleichen Lösungsmittel unterschiedliche Verbindungen der Formel I enthalten sind, bei denen n zwischen 1 und 5 liegt, als wenn eine gegebene Verbindung mit unterschiedlichen Lösungsmitteln zur Anwendung kommt. Da bzw. soweit der Einfluß des Lösungsmittels auf die pharmakokinetischen Eigenschaften vernachlässigbar ist, kann man dasjenige Lösungsmittel auswählen, das weniger Nebenwirkungen - hauptsächlich für seine Anwendung in der Klinik - eine bessere Verträglichkeit und geringere galenische Schwierigkeiten (Stabilität usw.) zeigt.

Die akute Toxizität der subkutan an Mäuse verabreichten erfindungsgemäßen Produkte ist geringer als diejenige von Gentamicinsulfat (für diese Versuche wurden ausgewachsene Tiere mit einem Gewicht zwischen 20 und 25 g verwendet).

DL <sub>50</sub>	(Gentamicinsulfat)	=	485 mg/kg
DL <sub>50</sub>	(Derivat mit a=10,n=1)	=	660 <sub>+52</sub> mg/kg
DL <sub>50</sub>	(Derivat mit a=10,n=2)	≈	1000 mg/kg
DL <sub>50</sub>	(Derivat mit a=10,n=3)	>	1000 mg/kg
DL <sub>50</sub>	(Derivat mit a=10,n=4)	>	1000 mg/kg
DL <sub>50</sub>	(Derivat mit a=10,n=5)	>	1000 mg/kg

Die Ergebnisse sind in Gentamicin-Base ausgedrückt.

Schließlich wurden die Verbindungen der Formel I mit n = 2 und n = 3 an gesunde weibliche und männliche Freiwillige verabreicht (im Vergleich zu Gentamicinsulfat), wobei die in Tabelle IV angegebenen Plasma-Konzentrationen er-

halten wurden. Die Dosen wurden so ausgewählt, daß in keinem Falle Konzentrationen über 10 µg/ml erreicht wurden.

Die Verbindung mit n = 3 wurde in Lösung entsprechend der weiter unten angegebenen injizierbaren Rezeptur 5 verabreicht und die Verbindung mit n = 2 wurde zusammen mit dem gleichen Lösungsmittel, jedoch in einer Konzentration von 0,500 g/4 ml verwendet, d.h. beide Verbindungen wurden mit einer Konzentration von 60 mg/ml Gentamicin-Base angewandt. Gentamicinsulfat wurde in gleicher aktiver Konzentration in wässriger Lösung mit 1 % Lidocain-hydrochlorid verabreicht. Die Gehaltsbestimmungen erfolgten nach der oben angegebenen Methode.

In der nachfolgenden Tabelle IV sind auch die Halbwertszeiten für die drei verabreichten Substanzen angegeben.

Tabelle IV

Gentamicinkonzentrationen im Plasma beim Menschen  
(µg/ml; Mittelwerte der bei 10 Freiwilligen ermittelten Konzentrationen)

Produkte und Dosen	Stunden nach Verabreichung						Halbwertszeit (Std)
	1	3	6	10	15	20	
Gentamicin- sulfat (1,2 mg/kg)	5,54	2,37	0,79	0,20	(*)	(*)	1,89

Tabelle IV (Fortsetzung)

Produkte und Dosen	Stunden nach Verabreichung						Halbwerts- zeit (Std)
	1	3	6	10	15	20	
Derivat mit n = 2 (3,2 mg/kg)	7,49	5,38	2,74	0,87	0,27	(*)	2,77
Derivat mit n = 3 (5 mg/kg)	6,49	5,80	3,52	2,08	1,10	0,58	5,31

(\*) nicht mehr nachweisbar

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind bevorzugt in der klinischen Praxis in Form einer Lösung oder Mischung mit Lösungsmitteln und/oder inerten Exzipienten, Stabilisierungsmitteln usw. in beliebiger für ihre Applikation geeigneter Form bevorzugt parenteral und topisch zu verabreichen, d.h. in Form von Lösungen oder Suspensionen, Creme, Pomaden, Lotionen usw.

Für die Verabreichung auf parenteralem Wege kann man als Lösungsmittel oder Exzipienten reine oder kombinierte Monoalkohole, Polyole, Polyglykole, Furfuryläther, Dioxolane, synthetische Ester oder polyoxyäthylenierte Öle anwenden.

Schließlich kann man, wenn eine topische Applikation gewünscht wird, die Verbindungen in Form von Creme, Pomaden und Lotionen vom Typ Öl in Wasser oder Wasser in Öl, wasser-

2517600

freien Pomaden und alkoholischen oder nicht-alkoholischen Lotionen anwenden, die Fettalkohole, Fette und Wachse (von Tier, Pflanze oder synthetisch), Mineral- und Pflanzenöle, Polyole, oberflächenaktive Mittel (anionische, kationische, nicht-ionische oder ampholytische Mittel), Konservierungsmittel usw. enthalten können.

Die parenteral zu verabreichende tägliche Dosis dieser neuen Gentamicinderivate liegt zwischen 27 000 und 500 000 Gentamicineinheiten, die normalerweise in einer Einzelgabe verabreicht werden.

Die Dosis bei topischer Anwendung kann je nach Schwere der Infektion und zu behandelndem Bereich sehr variabel sein.

Nachfolgend werden einige Beispiele für parenteral bzw. topisch verabreichbare pharmazeutische Präparate angegeben.

Die angegebenen Mengen der Gentamicinderivate beziehen sich auf das 100 % reine Produkt, was theoretisch für das Gentamicin-penta-(n-dodecyl-sulfat) 269 U/mg, für das Tetra-(n-dodecyl-sulfat) 316 U/mg und für das Tri-(n-dodecyl-sulfat) 382 U/mg entspricht. Je nach tatsächlicher Konzentration des Produktes sind daher entsprechende Korrekturen notwendig.

509851/0945

2517600

I - Injizierbare Präparate bzw. Rezepturen

- |    |   |          |  |
|----|---|----------|--|
| 1) | Gentamicin-penta-(n-dodecyl-sulfat) ...                         | 0,740 g  |  |
|    | Tetraglykol (Tetrahydrofurfuryloxid<br>von Äthylenglykol) ..... | 1,2 ml   |  |
|    | Äthyloleat q.s.p. ....  | 4 ml     |  |
| 2) | Gentamicin-tri-(n-dodecyl-sulfat) .....                         | 0,526 g  |  |
|    | Transcutol (Äthyloxid von Diäthylen-<br>glykol) .....           | 1,6 ml   |  |
|    | Labrafil (polyoxyäthylenierte Öl-<br>säureglyceride) .....      | 4 ml     |  |
| 3) | Gentamicin-tetra-(n-dodecyl-sulfat) ...                         | 0,633 g  |  |
|    | Äthyllactat .....   | 1 ml     |  |
|    | Äthyloleat .....  | 4 ml     |  |
| 4) | Gentamicin-tri-(n-dodecyl-sulfat) .....                         | 0,629 g  |  |
|    | Tetraglykol .....   | 0,8 ml   |  |
|    | Propylenglykol .....  | 0,4 ml   |  |
|    | Benzylalkohol .....   | 0,08 ml  |  |
|    | Lidocain-hydrochlorid .....                                     | 0,04 g   |  |
|    | Natriummetabisulfit .....                                       | 0,004 g  |  |
|    | Polysorbat .....  | 0,08 g   |  |
|    | entionisiertes Wasser q.s.p. ....                               | 4 ml (+) |  |
| 5) | Gentamicin-tri-(n-dodecyl-sulfat) .....                         | 0,629 g  |  |
|    | Äthyllactat .....   | 1,2 ml   |  |
|    | Benzylalkohol .....   | 0,04 ml  |  |
|    | Lidocain-hydrochlorid .....                                     | 0,04 g   |  |
|    | Natriummetabisulfit .....                                       | 0,004 g  |  |
|    | Polysorbat .....  | 0,08 g   |  |
|    | entionisiertes Wasser q.s.p. ....                               | 4 ml (+) |  |

(+) Wenn nötig, wird der pH-Wert mit  
Triäthanolamin auf 8 bis 8,5 eingestellt.

509851/0945



## II - Cremerezepturen für topische Anwendungen

### A) Waschcreme vom Typ Öl/Wasser

1) Gentamicin-tri-(n-dodecyl- sulfat) .....	0,526	g
auto-emulgierbares Glyceryl- monostearat .....	14	g
zähflüssige Vaseline (weißes Petrolatum) .....	21	g
Glycerin .....	3	g
Methylparaben .....	0,100	g
Propylparaben .....	0,020	g
entionisiertes Wasser q.s.p....	100	g
2) Gentamicin-penta-(n-dodecyl- sulfat) .....	0,740	g
Cetylalkohol .....	18	g
Bienenwachs .....	2	g
Glycerin .....	9	g
Natriumlaurylsulfat .....	1	g
Methylparaben .....	0,100	g
Propylparaben .....	0,020	g
entionisiertes Wasser q.s.p. ..	100	g

### B) Creme vom Typ Wasser/Öl

Gentamicin-tetra-(n-dodecyl- sulfat) .....	0,633	g
zähflüssige Vaseline .....	36	g
Arlacel C .....	6	g
Bienenwachs .....	4	g
Methylparaben .....	0,100	g
Propylparaben .....	0,020	g
entionisiertes Wasser q.s.p. ..	100	g

Gemäß der Erfindung werden die neuen Gentamicinderivate der Formel (I) durch Umsetzung von Gentamicin (frei oder in Form eines Anlagerungssalzes mit einer Säure, vorzugsweise in Form von Sulfat) mit einer n-Alkyl-schwefelsäure insbesondere n-Octyl- oder n-Dodecylschwefelsäure (frei oder in Form eines ggf. substituierten Metall- oder Ammoniumsalzes) in einem inerten Lösungsmittel wie Wasser, Alkoholen oder ihren Mischungen hergestellt. Die freie Gentamicin-Base bzw. n-Alkyl-schwefelsäure kann durch Hindurchleiten der Lösung ihrer Salze in wässrigen, alkoholischen oder gemischten Lösungsmitteln durch (anionische bzw. kationische) Ionenaustauscherharze erhalten werden.

Die Derivate mit n gleich 1, 2, 3 oder 4 können auch durch Umsetzung eines Derivats, bei dem n einen höheren Wert als bei dem zu erzielenden Produkt hat, in einem inerten Lösungsmittel, vorzugsweise niederen Alkoholen wie Methanol, Äthanol oder Isopropanol mit einer starken Base wie beispielsweise Alkalihydroxiden oder -alkoholaten in ausreichender Menge zur partiellen Neutralisierung der n-Alkyl-schwefelsäuregruppen (je nach zu erzielendem Derivat) und Abtrennung des unlöslichen Metall-n-alkylsulfats oder auch durch Umsetzung mit der erforderlichen Menge an freiem Gentamicin (hergestellt wie oben angegeben oder "in situ" ausgehend von seinem Salz mit einer Säure, vorzugsweise einem Sulfat in wässriger Lösung und Neutralisation mit einer starken Base sowie nachfolgende Abtrennung des unlöslichen Metallsulfats) hergestellt werden.

Bei Verwendung eines organischen Lösungsmittels wird das gewünschte Produkt durch Abdampfen des ersteren bis zur Trockne, üblicherweise in einer rotierenden bzw. umlaufenden Vakuumapparatur isoliert.

Die Produkte mit  $n = 5$  werden in Anbetracht ihrer sehr geringen Löslichkeit vorzugsweise in wässrigem Milieu hergestellt und durch Filtrieren oder Zentrifugieren und Waschen isoliert. Das zurückgehaltene Wasser wird dann entweder durch Trocknen im Vakuum in Gegenwart eines Trocknungsmittels oder durch Auflösen des erhaltenen Rohproduktes in einem Lösungsmittel, das mit Wasser azeotrope Mischungen bildet, wie Äthanol und Isopropanol und Eindampfen unter vermindertem Druck bis zur Trockne vorzugsweise in einer rotierenden Apparatur entfernt.

Die folgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung.

#### Beispiel 1

Zu 2 l destilliertem Wasser in einem 10 l Behälter wurden unter Rühren und mit gleicher Geschwindigkeit eine Lösung von 100 g Gentamicinsulfat mit 30,35 % Sulfat (0,316 Mol), 7,73 % Wasser (nach Karl Fischer) und 637 Einheiten/mg (Gentamicin) in 1,5 l destilliertem Wasser sowie eine Lösung von 186 g 98 %igem Natrium-n-dodecyl-sulfat (0,632 Mol) in

2517600

1,5 l destilliertem Wasser hinzugegeben. Es bildete sich eine Ausscheidung in Form von kleinen Klümpchen, die nach einer Stunde zusätzlichem Rühren abfiltriert, zwei- bis dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen und 3 Stunden lang in einem Vakuumtrockenschrank bei weniger als 5 Torr in Gegenwart von  $P_2O_5$  getrocknet wurde. Das Produkt wurde zerrieben und unter den gleichen Bedingungen 6 weitere Stunden lang nachgetrocknet und auf diese Weise wurden 221 g Gentamicin-penta-(n-dodecyl-sulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruch- und geschmacklosen Pulvers erhalten, das in Dimethylsulfoxid, Methanol, Äthanol und Isopropanol löslich und in Wasser, Aceton, Hexan und Petroläther unlöslich war. Der Wassergehalt (nach Karl Fischer) lag bei 2,5 % und der Schmelzpunkt (mit Zersetzung) bei  $160^{\circ}C$  beginnend;  $[\alpha]_D^{25} = + 44,2^{\circ}$  (4 %ig in Äthanol; auf das wasserfreie Produkt bezogener Wert); das IR-Spektrum (in KBr; Herstellung der Tablette durch Verreiben der Mischung mit Äthanol unter einer IR-Lampe) zeigte Hauptmaxima bei 3340, 2920, 2850, 1225 (breit) und  $1070\text{ cm}^{-1}$  und sekundäre Maxima bei 1585, 1465, 810, 628 und  $590\text{ cm}^{-1}$ . Das Verhältnis zwischen den Absorptionswerten der Maxima bei 3340 und  $2920\text{ cm}^{-1}$ , d.h.  $A_{3340}/A_{2920}$  lag bei 0,126.

Durch Bestimmung mit dem Bacillus Pumilus NCTC 8241 im Verhältnis zu einer Gentamicinsulfateinheit wurde eine biologische Aktivität des Produkts von 252 U/mg (bezogen auf das wasserfreie Produkt) ermittelt, während die (als Funktion der biologischen Aktivität des Ausgangsgentamicin-

509851/0945

sulfats errechnete) theoretische Aktivität bei 256 U/mg lag.

### Beispiel 2

Es wurde wie in Beispiel 1 mit den gleichen Mengen an Ausgangsmaterialien gearbeitet und der erhaltene Niederschlag filtriert und mehrere Male mit Wasser gewaschen und in 1 l Isopropanol gelöst. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck in einer rotierenden Vorrichtung bis zur Erzielung einer steifen bzw. zähen Paste eingedampft und dann erneut in 500 ml Isopropanol gelöst, und nach einem erneuten Eindampfen bis zum Erreichen eines trockenen Zustandes wurden 226 g des gleichen Produkts wie oben beschrieben mit einer biologischen Aktivität von 248 U/mg und einem Wassergehalt (nach Karl Fischer) von 1,2 % erhalten.

### Beispiel 3

Zu einer Lösung von 4,8 g Gentamicin-penta-(n-dodecylsulfat) (eine 1 180 000 Einheiten entsprechende Menge) in 30 ml Isopropylalkohol wurde langsam unter Rühren eine Mischung von 0,75 ml NaOH (4,65 n in Methanol) und 0,55 g Gentamicinsulfat (von demselben Vorrat wie für Beispiel 1 benutzt) gelöst in 2 ml destilliertem Wasser hinzugegeben. Es wurde 1 Stunde lang gerührt, zur Abtrennung des unlöslichen Natriumsulfats filtriert und die Lösung im Vakuum bis zur Trockne eingedampft. Das resultierende Produkt wurde

509851/0945

in 25 ml Isopropanol gelöst, die Lösung filtriert und erneut in einem Drehverdampfer zur Trockne gebracht. Das erhaltene Produkt wurde zerrieben und 3 Stunden lang in einem Vakuumtrockenschrank in Gegenwart von  $P_2O_5$  getrocknet. Auf diese Weise wurden 4,5 g Gentamicin-tetra-(n-dodecylsulfat) in Form eines weißen, geruch- und geschmacklosen, in Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid, Methanol, Äthanol, Isopropanol und Tetraglykol löslichen und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslichen Pulvers erhalten.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 2,13 %
- Schmelzpunkt (in der Kapillare) : 130-140°C (mit Zers.);
- $[\alpha]_D^{25} = + 46,2^\circ$  (20 %ig in Äthanol; auf das wasserfreie Produkt bezogener Wert);
- das nach dem gleichen Verfahren wie in Beispiel 1 aufgenommene IR-Spektrum zeigte die gleichen Absorptionsbanden, jedoch ein Verhältnis  $A_{3340}/A_{2920}$  von 0,170.

Seine nach der gleichen Technik ermittelte und in der gleichen Weise wie in Beispiel 1 ausgedrückte Aktivität lag bei 288 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 302 U/mg.

#### Beispiel 4

Zu einer Lösung von 5 g Gentamicin-penta-(n-dodecylsulfat) (entsprechend 1 190 000 Einheiten (U) Gentamicin) in 60 ml Isopropylalkohol wurden 5,1 ml Natriummethylat (1,08n; gelöst in Äthanol) hinzugegeben. Es wurde eine halbe Stunde

2517600

lang gerührt und dann das unlösliche Natrium-n-dodecylsulfat abfiltriert und die Lösung in einem Drehverdampfer zur Trockne eingedampft. Der erhaltene Feststoff wurde zerrieben und die Trocknung in einem Vakuumtrockenschrank 3 Stunden lang in Gegenwart von  $P_2O_5$  zu Ende geführt.

Auf diese Weise wurden 3 g Gentamicin-tri-(n-dodecylsulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruch- und geschmacklosen, in Methanol, Äthanol, Isopropanol sowie in hydroalkoholischen Mischungen und in Aceton/Wasser (8/2) löslichen und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslichen Pulvers erhalten.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 1,6 %
- Kapillar-Schmelzpunkt:  $125^{\circ}C$  mit Zersetzung;
- $[\alpha]_D^{25} = + 57,0^{\circ}$  (16 %ig in Äthanol);
- das nach dem gleichen Verfahren wie in Beispiel 1 aufgenommene IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie die Verbindungen der Beispiele 1 und 3 bei einem Verhältnis  $A_{3340}/A_{2920}$  von 0,231.

Die biologische Aktivität lag bei 334 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 348 U/mg (berechnet wie weiter oben).

#### Beispiel 5

- a) Es wurde eine Lösung von n-Dodecyl-schwefelsäure hergestellt, indem eine Lösung von 5,6 g (18,96 mÄq) Natrium-

509851/0945

n-dodecyl-sulfat in 100 ml Äthanol/Wasser (8/2) langsam durch 50 ml eines stark kationischen Harzes (Merck I) geschickt wurde, das vorangehend mit 100 ml 2n HCl aktiviert und regeneriert und bis zur Erzielung eines neutralen pH-Wertes gewaschen worden war. Dann wurde mit Äthanol/Wasser (8/2) auf ein Volumen von 200 ml verdünnt.

- b) Eine Lösung von 3,75 g (23,7 mÄq) Gentamicinsulfat ( $30,35 \% \text{SO}_4^{''}$ ) in 30 ml Wasser/Methanol (6/4) wurde langsam durch 50 ml eines stark anionischen Harzes (Merck III) geschickt, das vorangehend mit 100 ml 2n NaOH aktiviert und regeneriert und bis zur Neutralisation gewaschen worden war. Es wurde mit Wasser/Methanol (6/4) bis zu einem Endvolumen von 150 ml eluiert und der Eluent in einer von außen gekühlten Flasche gesammelt.

Diese Lösung wurde zu der nach a) erhaltenen hinzugegeben und die Mischung in einer rotierenden Vakuumapparatur bis zur praktisch vollständigen Trockne eingedampft. Die resultierende Paste wurde in 100 ml Isopropanol gelöst und dann erneut zur Trockne gebracht. Abschließend wurde das Produkt zerrieben und in einem Vakuumtrockenschrank in Gegenwart von  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet.

Auf diese Weise wurden 7,1 g Gentamicin-tetra-(n-do-



decyl-sulfat) mit den gleichen Eigenschaften wie das in Beispiel 3 erhaltene Produkt und mit einem Wassergehalt (nach Karl Fischer) von 1,6 % und einer biologischen Aktivität von 273 U/mg erhalten.

#### Beispiel 6

Nach der gleichen Technik wie im vorangehenden Beispiel wurde ausgehend von 7,5 g (47,4 mÄq) Gentamicin-sulfat eine Lösung von Gentamicin-Base hergestellt, die zu einer Lösung von n-Dodecyl-schwefelsäure (identisch mit der nach a) des vorangehenden Beispiels erhaltenen) hinzugegeben wurde.

Unter Befolgung der gleichen Arbeitsweise wurde das gebildete Produkt isoliert und so 9,1 g Gentamicin-di-(n-dodecyl-sulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruchlosen Pulvers erhalten, das in Methanol, 60 bis 100 %igem Äthanol und Tetraglykol löslich und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslich war.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 2,5 %;
- Kapillar-Schmelzpunkt : Zersetzung ausgehend von 102°C;
- $[\alpha]_D^{25} = + 65,80$  (12 %ig in Äthanol);  
(auf das wasserfreie Produkt bezogener Wert);
- das IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie das Produkt von Beispiel 1, jedoch ein Verhältnis  $A_{3340}/A_{2920}$  von 0,361.

Die wie in Beispiel 1 ermittelte biologische Aktivität lag bei 415 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 457 U/mg.

#### Beispiel 7

Zu einer Lösung von 2,95 g Gentamicin-penta-(n-dodecylsulfat) (entsprechend 725 000 U Gentamicin) in 30 ml Methanol wurden unter Rühren 3,15 g Gentamicin-Base (erhalten durch Hindurchleiten einer wässrigen Lösung des Sulfats durch ein anionisches Harz und nachfolgendes Gefriertrocknen) hinzugegeben. Es wurde eine halbe Stunde lang gerührt und dann zur Entfernung der geringfügigen Verunreinigungen filtriert und in einem Drehverdampfer bis zur Trockne eingedampft.

Das Produkt wurde zerrieben und in einem Vakuumtrockenschrank 3 Stunden lang in Gegenwart von Phosphorpentoxid getrocknet. Auf diese Weise wurden 5,3 g Gentamicin-mono-(n-dodecyl-sulfat) in Form eines wachsartigen, weißen, geruchlosen, in Äthylalkohol wenig löslichen, in Äthylalkohol/Wasser (1/1) löslichen und in Wasser unlöslichen Pulvers erhalten.

- Wassergehalt (nach Karl Fischer) : 3,7 %;
- Kapillar-Schmelzpunkt : ausgehend von 80°C mit Zersetzung;
- $[\alpha]_D^{25} = + 93,40$  (10 %ig in Äthanol);
- das IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie die

2517600

vorangehenden Verbindungen und einen Wert für  $A_{3340}/A_{2920}$  von 0,485.

Die biologische Aktivität lag bei 557 U/mg bei einem theoretischen Maximalwert von 619 U/mg (berechnet und ausgedrückt wie vorangehend).

#### Beispiel 8

Über 100 ml destilliertem Wasser wurden unter Rühren und mit gleicher Geschwindigkeit eine Lösung von 20,0 g Gentamicinsulfat (mit 30,6 % Sulfat) in 100 ml destilliertem Wasser und 180 ml einer 18,5 %igen Lösung von Natrium-n-octyl-sulfat in Wasser zugesetzt. Der gebildete Feststoff wurde abfiltriert, mit destilliertem Wasser gewaschen und über  $P_2O_5$  8 Stunden lang im Vakuum getrocknet unter Erzielung von 31 g Gentamicin-penta-(n-octyl-sulfat) in Form eines weißen, wachsartigen, in Methanol, Äthanol und Isopropanol löslichen und in Wasser, Aceton und Hexan unlöslichen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von  $204^{\circ}C$  mit Zersetzung (Kofler);  $[\alpha]_D^{20} = + 46,5^{\circ}$  (20 %ig in Äthanol). Das (nach der Technik von Beispiel 1 erhaltene) IR-Spektrum zeigte Banden an den gleichen Stellen wie die Verbindungen der Beispiele 1 bis 7.

Die biologische Prüfung ergab einen Wert von 320 U/mg (theoretisch 316 U/mg) bei einem Wassergehalt von 3,1 % (nach Karl Fischer).

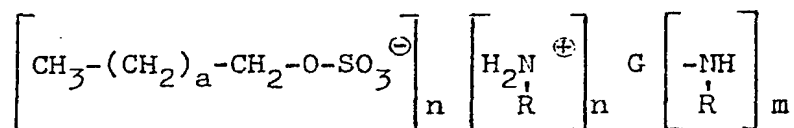
509851/0945

Beispiel 9

15 g des nach Beispiel 8 erhaltenen Produkts wurden in 150 ml Isopropylalkohol gelöst und die Lösung unter Rühren mit einer Lösung von 5,1 g Gentamicinsulfat in 15 ml Wasser versetzt, zu der 7,0 ml 4,65n NaOH in Methanol hinzugegeben wurden. Die erhaltene Suspension wurde filtriert, das Filter mit Isopropanol gespült, der Feststoff verworfen und das Filtrat eingeeengt und über  $P_2O_5$  im Vakuum getrocknet unter Erzielung von 18 g Gentamicintri-(n-octyl-sulfat) in Form eines weißen, wachsartigen, in Methanol, Äthanol und Isopropanol löslichen und in Wasser und Hexan unlöslichen Feststoffs mit einem Schmelzpunkt von 75-80°C mit Zersetzung (Kofler). Das IR-Spektrum zeigte die gleichen Banden wie die Verbindung von Beispiel 8, jedoch mit unterschiedlichen relativen Intensitäten. Die biologische Prüfung ergab einen Wert von 450 U/mg (theoretisch : 435 U/mg). Der Wassergehalt (nach Karl Fischer) lag bei 2,8 %.

Patentansprüche

1. Neue Gentamicinderivate der allgemeinen Formel:



in der G der Rest eines Gentamicinmoleküls ist und a eine Zahl von 6 bis 10 sein kann und insbesondere gleich 10 ist, n von 1 bis 5 und m von 0 bis 4 variieren kann, wobei die Summe von n + m stets gleich 5 ist und R Wasserstoff oder Methyl bedeutet.

2. Gentamicin-mono-(n-dodecyl-sulfat) als Verbindung nach Anspruch 1.

3. Gentamicin-di-(n-dodecyl-sulfat) als Verbindung nach Anspruch 1.

4. Gentamicin-tri-(n-dodecyl-sulfat) als Verbindung nach Anspruch 1.

5. Gentamicin-tetra-(n-dodecyl-sulfat) als Verbindung nach Anspruch 1.

6. Gentamicin-penta-(n-dodecyl-sulfat) als Verbindung nach Anspruch 1.

509851/0945

2517600

7. Pharmazeutische Mittel mit einer antibiotischen Wirksamkeit, gekennzeichnet durch einen wirksamen Gehalt an zumindest einer Verbindung nach Anspruch 1.
8. Pharmazeutische Mittel nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einer für parenterale oder topische Verabreichung geeigneten Form vorliegen.
9. Pharmazeutische Mittel nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einer für parenterale Verabreichung in Tagesdosen mit 27 000 bis 500 000 Einheiten Gentamicin geeigneten, unter Verwendung von Lösungsmitteln oder Exzipienten, insbesondere Mono- oder Polyolen, Polyglykolen, Furfuryläthern, Dioxolanen, synthetischen Estern oder polyoxyäthylenierten Ölen erhaltenen Form vorliegen.
10. Pharmazeutische Mittel nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einer für topische Anwendung geeigneten Form, insbesondere als Creme, Pomaden oder Lotionen vom Typ Öl in Wasser oder Wasser in Öl und wasserfreien Produkten, die Fettalkohole, Fette und Wachse, Öle, Polyole sowie oberflächenaktive Mittel und Konservierungsmittel sowie übliche Hilfsstoffe enthalten können, vorliegen.
11. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man Gentamicin in freier Form oder in Form eines Säureanlagerungssalzes mit

509851/0945

2517600

n-Alkyl-, insbesondere n-Dodecyl-schwefelsäure in freier oder ggf. substituierter Metall- oder Ammoniumsalzform umgesetzt.

12. Verfahren zur Herstellung der Verbindungen nach Anspruch 1, bei denen  $n = 1, 2, 3$  oder  $4$  ist, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Verbindung, bei der  $n$  einen größeren Wert als bei der herzustellenden Verbindung hat, in einem inerten Lösungsmittel mit einer Base wie einem Alkalihydroxid oder einem Alkalialkoholat oder aber mit Gentamicin-Base umsetzt.

13. Verfahren zur Verbesserung der Pharmakokinetik von Gentamicin durch parenterale oder topische Verabreichung eines pharmazeutisch verträglichen Präparats, enthaltend eine oder mehrere Verbindungen der Formel nach Anspruch 1.

509851/0945